O papel do ATP na epilepsia do lobo temporal

Diego Marques Moreira [1]

[1] Ciências Biológicas e da Saúde – Universidade Cruzeiro do Sul – UNICSUL, São Miguel - SP, Brasil.
*Autor de Correspondência: Diego Marques Moreira

Endereço: Av. Dr. Ussiel Cirílo, 225 - Vila Jacuí, São Paulo - SP, 08060-070 Tel: 11 3003-1189

E-mail: diegom.farmacia@gmail.com

RESUMO

A Epilepsia afeta cerca de 50 milhões de pessoas no mundo, sendo a Epilepsia do Lobo Temporal (ELT) o tipo mais comum, compondo cerca de 40 a 50% dos casos relatados e apresenta 70 a 80 % crises parciais complexas originadas no lobo temporal, principalmente na região do hipocampo e amígdala. Dos casos de ELT, aproximadamente 25% são pacientes que possuem crises que não podem ser controladas por drogas antiepilépticas, ou seja, são casos refratários. Sendo assim, vários estudos buscam alternativas que possam substituir a terapêutica atual que em alguns casos são refratários, dentre a diversidade de pesquisas sobre o assunto existem pesquisas com receptores purinérgicos do tipo P2X7. Um grupo de pesquisadores mostraram o aumento da expressão de receptores P2X7 (P2X7r) em modelos experimentais de diversas doenças neurológicas degenerativas entre elas a Epilepsia, outro estudo mostrou que há aumento significativo do P2X7r em cérebros de camundongos logo após o *status epilepticus* (SE) induzido por pilocarpina ou ácido kaínico sustentando a hipótese de que o P2X7r participa de vias neurodegenerativas presentes na epilepsia. Outro estudo mostra que o antagonismo de receptores P2X7 com o Brilliant Blue G (BBG) foi capaz de prevenir morte neurais causada pelo *Status epilepticus* (SE). Esse trabalho tem como objetivo revisar trabalhos e oferecer informações de diversos estudos sobre o papel do receptor P2X7 na epilepsia. Trata-se de um artigo de revisão e como método utiliza-se buscas realizadas em obras literárias físicas bem como bases de dados bibliográficas (Pubmed e Scielo). Este estudo mostra que o efeito anti-inflamatório e antiapoptótico através do bloqueio de receptores do tipo P2X pode ser alvo futuro, para tratamento de pacientes epilépticos refratários aos tratamentos convencionais atuais. A ação neuroprotetora pode ser crucial para proteção às crises, sendo uma possível abertura para utilização de bloqueadores do receptor concomitantemente aos tratamentos já vigentes. Conclui-se que apesar de vários estudos mostrarem relações entre receptores P2X7 e a epilepsia ainda há necessidade de mais estudos sobre o tema para maior esclarecimento dos efeitos fisiológicos e patológicos desses receptores.

Palavras-chave: Epilepsia do lobo temporal; Receptores purinérgicos P2X7; Brilliant blue G; Hipocampo.

The role of ATP in Temporal Lobe Epilepsy

ABSTRACT

Epilepsy affects about 50 million people worldwide, being a Temporal Lobe Epilepsy (ELT), the most common type, making up about 40% of the reported cases and presenting 70 to 80% complex partial seizures originating in the temporal lobe, mainly in the hippocampus and amygdala region. The cases of TLE, approximately 25% are patients who have seizures that cannot be controlled by antiepileptic drugs, that is, they are refractory cases. Thus, in several studies, alternatives are sought that may replace the current situation in some cases, the refractories, among the diversity of research on the subject there are researches with purinergic receptors of type P2X7. A group of studies on the incidence of P2X7 expression (P2X7r) in experimental models of multiple neurological degenerative diseases including epilepsy, another study that had a significant increase of P2X7 in mouse brains soon after the induced status epilepticus (SE) by pilocarpine or kainic acid sustaining the hypothesis of the P2X7r participation of neurodegenerative posts presented in epilepsy. Another study shows that the antagonism of P2X7 receptors with Brilliant Blue G (BBG) was able to trigger neural death by epileptic status (SE). This paper aims to review papers and provide information from several studies on the role of the P2X7 receptor in epilepsy. It is a review paper and as a method uses searches made in physical literary works as well as bibliographic databases (Pubmed and Scielo). This study shows that the anti-inflammatory and antiapoptotic effect through the blockade of P2X type receptors may be a future target for the treatment of epileptic patients refractory to current conventional treatments. Neuroprotective action may be crucial for crisis protection, with a possible opening for the use of receptor blockers concomitantly with treatments already in place. It is concluded that although several studies show relationships between P2X7 receptors and epilepsy, there is still a need for further studies on the subject to clarify the physiological and pathological effects of these receptors.

Keywords: Temporal lobe epilepsy; P2X7 purinergic receptors; Brilliant blue G; Hippocampus.

1 INTRODUÇÃO

A epilepsia está entre os mais comuns distúrbios de origem neurológica, prejudicando o dia a dia de cerca de 50 milhões de pessoas no mundo (OMS, 2017). Este distúrbio tem como característica a recorrência de crises epilépticas espontâneas que se distendem da atividade anômala do sistema nervoso central, demonstrando episódios sensoriais, motores ou autonômicos, em alguns casos com perda da consciência (PEREIRA et al., 2005). Também têm predisposição a apresentar crises convulsivas pela hiper excitabilidade de neurônios do córtex cerebral causado por desequilíbrio entre a inibição e excitação sinápticas (JEFFERYS, 1990). A incidência da epilepsia está entre 40 a 70 pessoas em cada 100.000 habitantes em países desenvolvidos, entretanto em países em desenvolvimento, como o Brasil, essa pode chegar a 190 pessoas a cada 100.000, dentre esses casos 70 são crianças ou adolescentes, 30 são adultos até 64 anos e 100 acima dos 65 (SRIDHARAN, 2002).

O desenvolvimento de alternativas para o tratamento da epilepsia se torna cada dia mais necessário, tendo em vista que, cerca de 30% das pessoas que possuam o distúrbio são refratárias aos tratamentos tradicionais com fármacos (OMS, 2017). Diversos estudos têm sido conduzidos por especialistas na área de neurologia e neurociências para desvendar os mecanismos da refratariedade, e teoricamente, há ao menos quatro padrões de resistência ao tratamento farmacológico observado clinicamente, onde no primeiro caso, o paciente apresenta remissão desde o início da epilepsia, no segundo caso, não apresenta crises inicialmente mas se desenvolvem como recorrentes e depois se tornam incontroláveis, o terceiro mecanismo de resistência ocorre quando a epilepsia alterna entre estados controláveis e não controláveis e no último mecanismo conhecido clinicamente o paciente é refratário inicialmente ao tratamento porém com o tempo esse passa a responder positivamente à terapia. Todos esses casos são notáveis apenas clinicamente, porém os mecanismos neurobiológicos da resistência permanecem até o momento desconhecidos apesar de diversos estudos estarem em andamento para o entendimento destes (SCHIMIDT, 2005).

Na tentativa de contornar os problemas com refratariedade de drogas e melhorar a qualidade de vida dos pacientes, estudiosos tentam elucidar o

mecanismo fisiopatológico da epilepsia e da resistência ao uso dos medicamentos disponível, e dentre as novas terapias promissoras disponíveis estão a Estimulação Cerebral Profunda, a terapia com Células tronco e o Bloqueio dos receptores purinérgicos do tipo P2X7.

A utilização do P2x7 como alternativa para tratamento da epilepsia se dá por sua atividade peculiar recém descoberta, onde a ativação desses receptores pelo seu ligante o Trifosfato de Adenosina (ATP em inglês *adenosine triphosphate*) promove a ativação de processo inflamatório, a indução de necrose e apoptose e proliferação de células de defesa no local.

O entendimento destes mecanismos pode ser o próximo passo da ciência para o completo entendimento dos processos patológicos da epilepsia ajudando no tratamento do grande número de pessoas que ainda não obtiveram resultados com as drogas disponíveis atualmente.

2 MÉTODOS

Trata-se de um artigo de revisão que busca aglomerar informações sobre o papel do receptor P2X7 na epilepsia, visto que, há escassez de estudos em português no tema proposto.

As buscas foram realizadas em obras literárias físicas bem como bases de dados bibliográficas como — PubMed, Web of Science e Scielo, Biblioteca Virtual em Saúde. Não foram estabelecidos limites quanto à data de publicação ou ao idioma dos estudos primários. Ao finalizar as pesquisas em cada base, as referências duplicadas foram excluídas.

3 DISCUSSÕES

Pioneiros da década de 70 propuseram o ATP como molécula de neurotransmissão em nervos inibitórios não colinérgicos (BURNSTOCK, 1972). Esse sistema de comunicação, hoje, é base de diversas bases de estudos sobre comunicação celular. O ATP é reconhecido por ser molécula de transmissão em diversos tecidos diferentes, um que tem sido base de várias pesquisas é o Sistema Nervoso Periférico e Central, onde o ATP exerce diversos tipos de comunicação celular tanto como transmissor principal como co-transmissor exercendo papel na apoptose celular e necrose tecidual. (BURNSTOCK, 2007).

O ATP é estocado por vesículas pré sinápticas e secretados por essas no espaço extracelular pelo processo de exocitose ou por rupturas nas membranas plasmáticas e por células em processo de apoptose (ABBRACCHIO, et al 2009). O ATP tem sua liberação provocada principalmente por atividades neuronais, ativação de receptores ATP dependentes ou até mesmo pela estimulação da adenilato ciclase (CUNHA, et al 1996; GEREAU, et al 1994; PELLEGATTI, et al 2005) Sua liberação não só depende de atividades celulares a níveis basais mas também pode ser provocado por alterações fisiopatológicas, levando ao aumento das concentrações do ATP no espaço extracelular como já provado em casos como da Epilepsia do Lobo Temporal durante a alta frequência de ativação neuronal das crises como já demonstrado por diversos estudos (WU et al 1978, WIERASZKO et al 1989; DALE et al 2009)

Diversas terapias alternativas têm sido estudadas na tentativa de driblar a resistência ao tratamento, dentre essas podemos citar a utilização de células tronco mesenquimais, técnicas de estimulação profunda comumente chamada de DBS (do inglês *Deep Brain Stimulation*) e o bloqueio de receptores P2X7 (P2X7r). Diversos estudos mostram que esses receptores estão envolvidos em processos neurodegenerativos como no Alzheimer e na epilepsia. Os P2X7r funcionam como canais iônicos, em resposta a altas concentrações de ATP extracelular, e são permeáveis a diversos cátions, como Ca2+, K+ e Na+ (Figura 1). O ATP endógeno , responsável pela ativação dos receptores P2X7 em processos inflamatórios, liberação de citocinas ou morte celular (NORTH, 2002) o que leva a suposição que estes estão envolvidos nas mortes celulares que ocorrem na epilepsia, principalmente na região hipocampal, onde está localizada grande parte destes receptores no sistema nervoso central (Figura 2)(KOGURE, 1978).

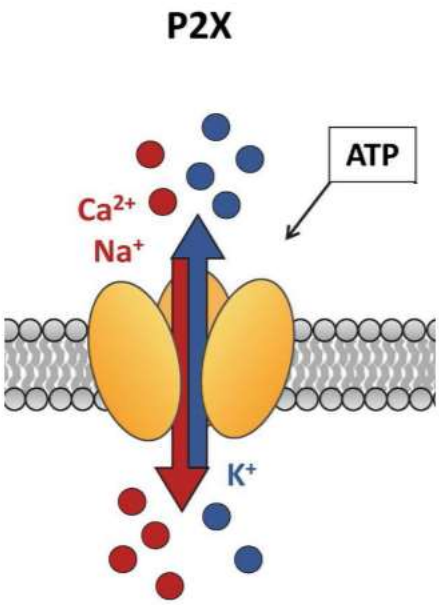

Figura 1. A ativação de receptores de membrana do tipo P2X, por ação da Adenosina Trifosfato, promove influxo de Ca^{2+} e de Na^{+} e efluxo de K^{+} promovendo aumento da despolarização celular e consequente estimulação neuronal, o excesso de ativação de receptores P2X7 provoca processos inflamatórios, liberação de citocinas ou morte celular (Adaptado de DATI, 2017).

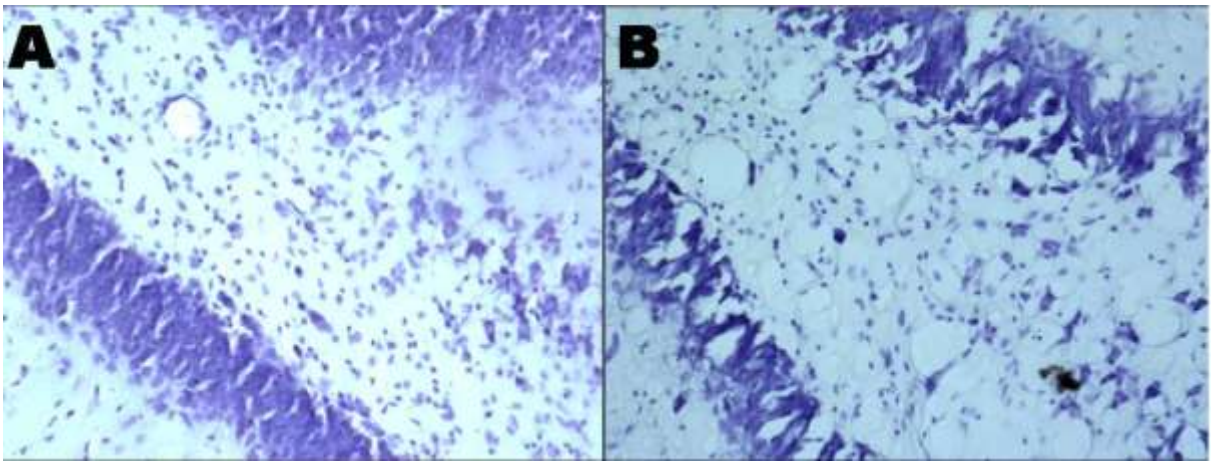

Figura 2. Imagens do hipocampo de animais epilépticos mostra células marcadas pela coloração de Nissl na subregião do hilo de (A) animal sem tratamento com bloqueador de receptores P2X7, (B) Hilo de animal tratado com Brilliant Blue G (BBG) um bloqueador de P2X7r (ADAPTADO DE: MOREIRA, 2017)

A atuação destes receptores na epilepsia vem sendo estudada e comprovada por diversos estudos (RAPPOLD et al., 2006; AVIGNONE et al., 2008; ENGEL et al., 2012; VIANNA et al., 2002). E algumas destas pesquisas evidenciaram o aumento de 80% na expressão de receptores P2X7 em pacientes refratários ao uso de diversos medicamentos para controle da Epilepsia do Lobo Temporal (ELT), e também foi comprovada a diminuição do número de células vivas na região hipocampal sustentando a hipótese que esses receptores participem do processo de neurodegeneração vista não só na ELT como também no Alzheimer, doença de príon, entre outras. O aumento na expressão de P2x7r se dá na região do hipocampo, principalmente no interior de fibras musgosas, axônios de células granulares e em neurônios piramidais do CA1 (VIANNA et al., 2002; KAWANO et al., 2012).

Outros estudos mostram que a ativação dos P2X7r promove perda de astrócitos no giro denteado e no córtex fronto-parietal, e aumento no processo inflamatório que , causado por sua hiperestimulação (KIM et al., 2011; NISHIZAKI, 2004). Numa crise epiléptica há aumento da atividade neuronal, onde naturalmente, as células passam a liberar ATP como resposta, este transmissor tem ação pró convulsiva. Outra ação desses transmissores , a ativação de receptores P2X7 promovendo ativação dos processos inflamatórios pela liberação de interleucina 1 beta (IL-1 beta) e o Fator alfa de necrose tumoral (TNF- alfa) e ativação do processo de apoptose (Figura 3). No caso do processo de apoptose o ATP atua em diversos receptores reforçando sua ação, dentre eles os metabotrópicos P2Y1, P2Y2 e, o estudado neste trabalho, o receptor ionotrópico P2X7. Essas ativações além de resultarem no processo de inflamação e apoptose também levam a necrose no sistema nervoso central assim como a proliferação de células como os linfócitos e a micróglia que são do sistema imunológico.

Com base nessas informações alguns trabalhos indicam que o bloqueio desse receptor pode prevenir a morte de células da glia, e expressar a melhora de neuropatologias envolvidas nesse processo, como a ELT (TAKENOUCHI et al., 2010)

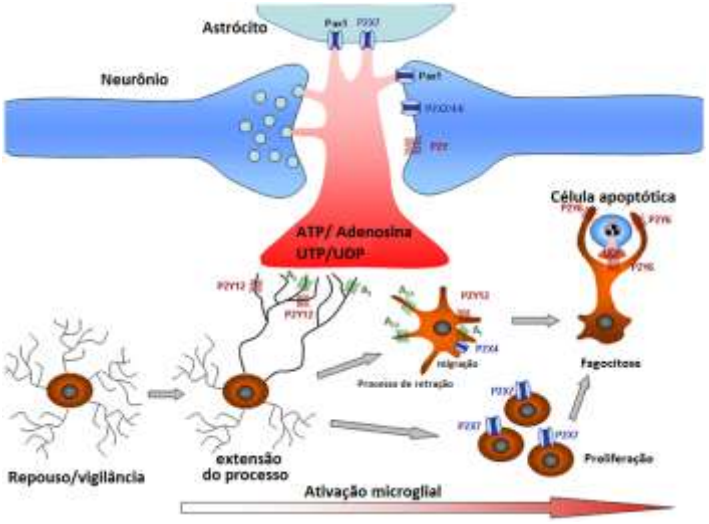

Figura 3. A liberação de nucleotídeos / nucleosídeos de células induz alterações nas micróglias. A medida que o dano tecidual aumenta ocorrem alterações microgliais como de marcadores da superfície celular que promovem ativação de genes relacionados a inflamação, a proliferação de células microgliais é causada pela ativação de P2X7r (Adaptado de DOMERCQ et al, 2015).

4 CONCLUSÃO

Este estudo mostra que o efeito anti-inflamatório e antiapoptótico através do bloqueio de receptores do tipo P2X pode ser alvo futuro, para tratamento de pacientes epilépticos refratários aos tratamentos convencionais atuais. A ação neuroprotetora pode ser crucial para proteção às crises, sendo uma possível abertura para utilização de bloqueadores do receptor concomitantemente aos tratamentos já vigentes.

Assim o esclarecimento de questões aprofundadas nesse texto auxiliam a compreender o complexo mecanismo de ativação celular, nos elucidando possíveis mecanismos alternativos para tratamento da doença, visto que, muitas pessoas ainda não obtêm êxito em seu tratamento devido a refratariedade.

A continuidade de estudos se torna importante uma vez que não se atinge boa parcela da população por problemas relacionados a terapia, portanto, a crescente demanda por tratamentos eficazes incita a buscar melhores alternativas.

Referências

Abbracchio MP; Burnstock G; Verkhratsky A and Zimmermann H. (2009) Purinergic signalling in the nervous system: an overview. Trends Neuroscience 32: 19-29

Avignone E; Ulmann L; Levavasseur F; et al. (2008) Status epilepticus induces a particular microglial activation state characterized by enhanced purinergic signaling. J Neurosci 28:9133–9144. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18784294. Acesso em: 12/07/2017

Barros-Barbosa AR; Fonseca AL; Guerra-Gomes S; et al. (2016) Up-regulation of P2X7 receptor–mediated inhibition of GABA uptake by nerve terminals of the human epileptic neocortex. Epilepsia, 57(1):99–110.

Burnstock G. (1972) Purinergic nerves. Pharmacol Rev 24: 509-581. Disponível em: http://garfield.library.upenn.edu/classics1985/A1985TZ12500001. Acesso em: 08/05/2018

Burnstock G. (2007) Physiology and pathophysiology of purinergic neurotransmission. Physiol Rev 87: 659-797

Cunha RA; Vizi ES; Ribeiro JA and Sebastiao AM. (1996) Preferential release of ATP and its extracellular catabolism as a source of adenosine upon high- but not low-frequency stimulation of rat hippocampal slices. J Neurochem 67: 2180-2187. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8863529. Acesso em: 15/04/2019.

Dale N and Frenguelli BG. (2009) Release of adenosine and ATP during ischemia and epilepsy. Curr Neuropharmacol 7: 160-179

Dati, LMM. (2017) Doença de Parkinson: possível envolvimento de receptores de cininas, purinas e de potencial transiente. Tese (Doutorado em fisiologia humana)- Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017. 108f. Disponível em: http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/42/42137/tde-22112017-112104/pt-br.php Acesso em 24/06/2019

Domercq M; Vázquez-Villoldo N; Matute C. (2015) Neurotransmitter signaling in the pathophysiology of microglia. Frontiers in cellular neuroscience, v. 7. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles /PMC3630369/ Acesso em: 19/06/2019

Engel T; Gomez-Villafuertes R; Tanaka K; et al. (2012) Seizure suppression and neuroprotection by targeting the purinergic P2X7 receptor during status epilepticus in mice. FASEB J. 26, 1616–1628

Engel T; Jimenez-Pacheco A; Miras-Portugal MT; et al. (2012) P2X7 Receptor in Epilepsy; Role in Pathophysiology and Potential Targeting for Seizure Control. International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology 4.4: 174–187. Print

Gereau RW 4th and Conn PJ. (1994) Potentiation of cAMP responses by metabotropic glutamate receptors depresses excitatory synaptic transmission by a kinase-independent mechanism. Neuron 12: 1121-1129. Disponível em : https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8185947. Acesso em: 04/12/2018

Jefferys JG. (1990) Basic mechanisms of focal epilepsies. Exp Physiol. 75(2):127-62.

Kawano A; Tsukimoto M; Mori D; et al. (2012) Regulation of P2X7-dependent inflammatory functions by P2X4 receptor in mouse macrophages. Biochemical and biophysical research communications, 420(1), 102-107

Kim JE; Ryu HJ; Yeo SI; et al. (2011) P2X7 receptor differentially modulates astroglial apoptosis and clasmatodendrosis in the rat brain following status epilepticus. Hippocampus, 21: 1318–1333. doi:10.1002/hipo.20850. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20848604. Acesso em: 20/06/2019.

Kogure K; Alonso OF.(1978) A pictorial representation of endogenous brain ATP by a bioluminescent method. Brain Res. 13;154(2):273-84. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/687995 Acesso em: 16/06/2017

Litt B; Esteller R; Echauz J; et al. (2001) Epileptic seizures may begin hours in advance of clinical onset: a report of five patients. Neuron, 30:51-54

Moreira, D.M. Efeito Do Tratamento Com Brilhant Blue G, Um Bloqueador Do Receptor P2X7, Potencializado Com Células-Tronco Mesenquimais No Hipocampo De Animais Epilépticos Crônicos. 2017.

Nishizaki T. (2004) ATP - and adenosine-mediated signaling in the central nervous system: adenosine stimulates glutamate release from astrocytes via A2a adenosine receptors. J Pharmacol Sci. 94(2):100-102. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14978344 Acesso em: 10/07/2017

North RA. (2002) Molecular physiology of P2X receptors. Physiological reviews, v. 82, n. 4, p. 1013-1067.

Organização Mundial da Saúde. (2017) Epilepsy. Disponível em: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs999/en/ Acesso em: 06/04/17.

Pellegatti P; Falzoni S, Pinton P; Rizzuto R and Di Virgilio F. (2005) A novel recombinant plasma membrane-targeted luciferase reveals a new pathway for ATP secretion. Mol Biol Cell 16: 3659-3665

Pereira HAA, Benassi SK, Mello LE.(2005) Plastic Changes and Disease - modifying Effects of Scopolamine in the Pilocarpine Model of Epilepsy in Rats. Epilepsia, v. 46, n. s5, p. 118-124. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15987265. Acesso em: 30/04/2017

Rappold PM; Lynd-Balta E; Joseph SA. (2006) P2X7 receptor immunoreactive profile confined to resting and activated microglia in the epileptic brain. BrainRes1089:171–178. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16635480. Acesso em: 14/07/2017

Regesta G; Tanganelli P; (1999) Clinical aspects and biological bases of drug-resistant epilepsies. Epilepsy Res 34: 109-122. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10210025. Acesso em: 13/16/2019

Schimidt D; Löscher W. (2005) Drug resistance in epilepsy: putative neurobiologic and clinical mechanisms. Epilepsia 46, 858-877

Sridharan R. (2002) Epidemiology of epilepsy. CurrSci, v. 82, n. 6, p. 664-670.

Takenouchi T; Sekiyama K; Sekigawa A; et al. (2010) P2X7 receptor signaling pathway as a therapeutic target for neurodegenerative diseases. Archivumimmunologiae et therapiaeexperimentalis, v. 58, n. 2, p. 91-96. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20143170 . Acesso em: 01/06/2019

Vianna EP; Ferreira AT; Naffah-Mazzacoratti MG; et al. (2002) Evidence that ATP participates in the pathophysiology of pilocarpine-induced temporal lobe epilepsy: fluorimetric, immunohistochemical, and Western blot studies. Epilepsia43 (Suppl.5): 227–229, 2002. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2518220/. Acesso em:12/07/2017

Vizi ES; Liang SD; Sperlagh B; Kittel A and Juranyi Z. (1997) Studies on the release and extracellular metabolism of endogenous ATP in rat superior cervical ganglion: support for neurotransmitter role of ATP. Neuroscience 79: 893-903

Wieraszko A and Seyfried TN. (1989) Increased amount of extracellular ATP in stimulated hippocampal slices of seizure prone mice. Neurosci Lett 106: 287-293 Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/030439408990178X. Acesso em: 19/03/2019

Wu PH and Phillis JW. (1978) Distribution and release of adenosine triphosphate in rat brain. Neurochem Res 3: 563-571. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/BF00963759. Acesso em: 27/01/2019

SOBRE O AUTOR

Diego Marques Moreira, graduado em Farmácia, Mestre em Ciências, Docente no curso superior de farmácia da Universidade Cruzeiro do Sul.
E-mail: diegom.farmacia@gmail.com